

ISOLASI DAN KARAKTERISASI PARSIAL ENZIM SELULASE DARI ISOLAT BAKTERI OS-16 ASAL PADANG PASIR TENGGER-BROMO

Isolation and Partial Characterization Of Cellulase Enzyme From Isolate Os-16 Cellulolytic Bacteria Origin Bromo-Tengger Desert

Nenu Maria Ovy Sonia^{1*}, Joni Kusnadi¹

1) Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP Universitas Brawijaya Malang
Jl. Veteran, Malang 65145

*Penulis Korespondensi, Email: marovys@gmail.com

ABSTRAK

Penanganan limbah pertanian di Indonesia belum dilaksanakan secara maksimal karena jumlahnya terlalu banyak dan mengandung selulosa yang sulit didegradasi. Tujuan penelitian ini, mendapatkan isolat bakteri selulolitik dari padang pasir Tengger-Bromo yang mampu bertahan pada kondisi ekstrim. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah deskriptif kualitatif, dan hasil perhitungan aktivitas enzim dipaparkan secara kuantitatif. Isolat bakteri OS-16 yang didapatkan memiliki kemampuan untuk memproduksi enzim selulase pada suhu tinggi, memiliki bentuk koloni bulat, berwarna putih dan agak tebal di bagian tengah dan pinggir koloni, bentuk tepi halus, merupakan bakteri Gram positif, mampu menghasilkan endospora, katalase positif, dan berbentuk basil. Aktivitas ekstrak enzim selulase kasar adalah 0.045 U/mL dengan suhu dan pH optimum 85°C dan 8. Aktivitas Enzim setelah presipitasi ammonium sulfat dan dialisis adalah 0.154 U/mL dan 0.505 U/mL dan kadar protein 2.15 mg/mL dan 1.56 mg/mL. Enzim selulase memiliki aktivitas tertinggi pada substrat dedak gandum sebesar 0.045 U/mL

Kata Kunci: Isolasi bakteri, Padang pasir Tengger-Bromo, Selulase, Selulosa.

ABSTRACT

Agricultural waste handling in Indonesia have not optimized well. Because of the amount of waste that contain cellulose which is too much and wasn't easy degradable. This study aims to obtain isolates of cellulolytic bacteria from Bromo Tengger desert that could survive in extreme conditions to help cellulase hydrolysis in nature. Method that used is descriptive qualitative and the result of enzyme activity count given in quantitative. OS-16 bacterial isolates was found have the ability to produce cellulase enzymes at high temperatures, it has the circle form colonies, white and thick in the center and the edge of the colony, form smooth edges. OS-16 is a Gram-positive bacterium, capable of producing endospores, catalase positive, shaped bacillus. Activity of rough cellulase enzyme extract is 0.045 U/mL with optimum temperature is 85°C and optimum pH is 8. Enzyme Activity after ammonium sulfate precipitation and dialysis are 0.154 U/mL and 0.505 U/mL and the protein content 2.15 mg/mL and 1.56 mg/mL. Cellulase enzyme has the highest activity in wheat bran substrate 0.045 U/mL.

Keywords: Isolation of Bacteria, Tengger-Bromo desert, Cellulase, Cellulose.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan Negara dengan tingkat biodiversitas tertinggi kedua di dunia setelah Brazil. Dengan tingkat biodiversitas yang tinggi dan tanah yang subur, sebagian besar penduduk Indonesia memiliki pencaharian di bidang pertanian atau bercocok tanam. Selulosa di alam jarang terdapat dalam bentuk murni, tetapi membentuk kristal bersama

lignin dan hemiselulosa, karena berbentuk kristal dan tidak mudah larut dalam air, selulosa sulit mengalami degradasi. Selulosa dapat dihidrolisis menjadi unit-unit glukosa sehingga dapat digunakan sebagai bahan baku fermentasi untuk menghasilkan etanol.[4]

Produksi selulase komersial umumnya menggunakan fungi atau bakteri yang telah diisolasi. Mikroorganisme dapat diisolasi dari mana saja termasuk dari padang pasir Tengger-Bromo. Padang pasir ini terbentuk akibat aktivitas vulkanik, sehingga jenis tanahnya berasal dari abu dan pasir vulkanis. Kondisi padang pasir Tengger-Bromo mirip dengan kondisi gurun, dimana ketersediaan air sangat sedikit terutama pada musim kemarau, dan tidak banyak tumbuhan yang mampu tumbuh, sehingga tercipta kondisi yang ekstrim bagi makhluk hidup termasuk mikroorganisme.[2]

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini berupa sampel tanah yang diambil dari padang pasir Bromo-Tengger. Bahan yang digunakan antara lain akuades, alkohol 70%, aquades, CMC, buffer fosfat pH 6-7, buffer Tris-HCl pH 8-9 agar, fenol, NaOH, *congo red*, HCL, BaCl₂, NaCl, DNS, Na-K-Tartrat, amonium sulfat, HCl, BaCl₂, dan glukosa dari toko Makmur Sejati, Sari Kimia dan Panadia Malang. Kertas putih, dedak padi, dedak gandum, serbuk kayu, dari toko buah Lai-Lai, tempat pembuatan mebel, dan toko buku, toko Makmur Sejati dan laboratorium Mikrobiologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik merk Metter Toledo, kompor listrik merk Maspion, autoklaf merk Hirayama, *laminar air flow* tipe LAF 01 V, *shaker waterbath* merk Julabo SW 22, vortex merk VM 2000-taiwan, spektrofotometer merk Jenway 6305, inkubator merk BD 53 Binder, sentrifus dingin merk Hettich Zentrifugen Mikro 22R, pH meter merk Hanna, botol sampel, *ice box*, mikroskop, *colonycounter*, alat-alat gelas seperti beaker glass, erlenmeyer, gelas ukur, labu ukur, spatula, ose, Bunsen, rak tabung reaksi, kantong selofan, *plastic wrap*, *aluminium foil*, *cawan* petri merk iwaki Pyrex, tabung reaksi merk Iwaki Pyrex, pipet tetes, kuvet, *blue tip*, *yellow tip*, *tube sentrifuse*, *hockey glass* dan pipet ukur.

Desain Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah deskriptif. Hasil penelitian dipaparkan secara deskriptif berdasarkan tahapan penelitian yang dilakukan. Hasil pengujian aktivitas enzim selulase dipaparkan secara kuantitatif.

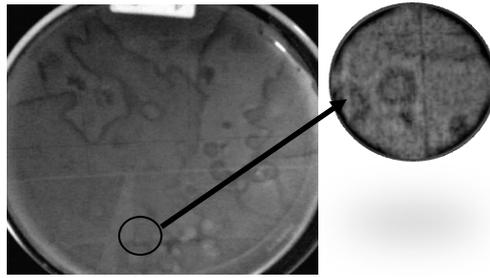
Tahapan Penelitian

Sampel tanah ditimbang 1 gram dan dilarutkan dalam 9 mL akuades steril. Selanjutnya dilakukan isolasi dan seleksi bakteri dengan menggunakan metode *spread* dan *streak plate* pada media CMC 1%. [4] Dilakukan pengukuran zona bening terbesar [5] dan dilanjutkan dengan uji aktivitas pH [6] dan suhu optimum enzim yang dihasilkan [7]. Pemurnian sederhana enzim selulase dilakukan dengan menggunakan pengendapan ammonium sulfat dan dialisis, selanjutnya dilakukan uji aktivitas pada beberapa substrat alami [8].

HASIL DAN PEMBAHASAN

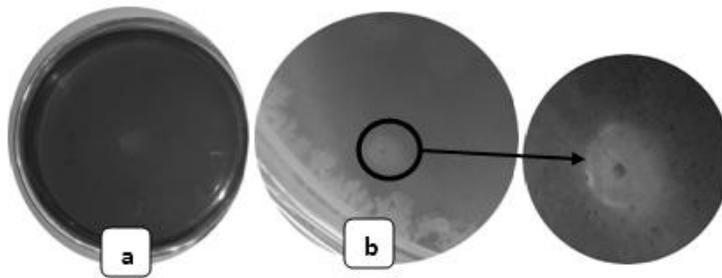
1. Isolasi Bakteri Penghasil Selulase

Penelitian ini dimulai dari pengambilan sampel pasir pada lautan pasir di sekitar gunung Bromo-Tengger. Pengambilan sampel dilakukan pada tiga tempat yang berbeda dengan jenis ekosistem yang berbeda, yakni ekosistem pepohonanan, ekosistem savanna dan ekosistem rumput gajah.



Gambar 1. Koloni OS-16 yang Menghasilkan Zona Bening

Selanjutnya dilakukan proses pengkayaan dengan menambahkan media selektif yang mengandung CMC 1% [3], (1 g CMC; 0.02 g MgSO₄; 0.075 g KNO₃; 0.05 K₂HPO₄; 0.002 g FeSO₄; 0.004 CaCl₂; 0.2 g ekstrak khamir, 1.5 g agar-agar bakto dan 0.1 g glukosa). Pada proses pengkayaan, sampel diinkubasi selama 72 jam di dalam *shaker waterbath* pada suhu 55°C sebagai suhu minimum pertumbuhan bakteri termofilik. Setelah 72 jam bakteri selulolitik diisolasi dengan menggunakan metode *spread plate* pada media selektif yang mengandung CMC 1%. Dari hasil *spread plate*, didapatkan sebanyak dua belas isolat dengan morfologi yang berbeda dari ketiga sampel (Gambar 1).



Gambar 2 a. Kontrol b. Isolat OS-16 dalam media selektif dengan pembanjiaran *congo red*

Setelah didapatkan 12 isolat dengan morfologi yang berbeda, dilakukan pemurnian untuk mendapatkan koloni yang benar-benar murni dengan melakukan *streak plate* pada media agar CMC dan diinkubasi selama 72 jam pada suhu 55°C. Setelah diinkubasi cawan dibanjeri dengan *congo red* 1% selama 15 menit, dan NaCl selama 15 menit.

Tabel 1. Isolat Bakteri Hasil Isolasi dari Padang Pasir Tengger-Bromo

Nama Isolat*	Ukuran Koloni (cm)	Ukuran Zona Bening (cm)	Indeks Selulolitik
OS-16	0.1 cm	1.1 cm	11
OS-1	0.8 cm	4 cm	5
OS-25	0.5 cm	1 cm	2
OS-15	1	1.1	1.1
OS-23	0.5	1.5	3
OS-24	0.3	0.9	3
OS-17	0.7	0.9	1.3
OS-22	0.8	1	1.25
OS-27	0.1	0.3	3
OS-172	0.7	1	1.42
OS-331	0.2	0.5	2.5
OS-332	0.5	0.8	1.6

*Ket: OS-(Tempat sampel diambil 1. Pepohonan 2.Rumput gajah 3.Savana), (Pengenceran),(Isolat dengan morfologi berbeda pada cawan yang sama)

Koloni yang mampu memproduksi selulase akan terdeteksi dengan terbentuknya zona oranye muda hingga bening setelah dibanjiri dengan *congo red* (Gambar 2). Zona bening dari 12 isolat diukur berdasarkan indeks selulolitik (IS). IS dihitung dari perbandingan diameter zona bening di sekitar bakteri dengan diameter koloni. Hasil pengukuran IS dapat dilihat pada Tabel 1.

Dari hasil perhitungan didapatkan bakteri yang diisolasi dari pepohonan (OS-16) memiliki aktivitas paling tinggi diikuti dengan bakteri yang diisolasi dari rumput gajah, dan yang terakhir bakteri yang diisolasi dari savanna.

2. Karakterisasi Bakteri OS-16

Tabel 2 menunjukkan hasil dari pengamatan morfologi dan ciri-ciri bakteri dari isolat OS-16. Hasil pewarnaan Gram isolat OS-16 merupakan bakteri Gram positif.

Tabel 2. Morfologi dan ciri-ciri isolat OS-16

Karakterisasi Isolat OS-16	
-	Bentuk koloni bulat
-	Bentuk tepi halus
-	Warna koloni putih dan agak tebal di bagian tengah dan pinggir koloni
-	Berbentuk lonjong (Bacil)
-	Bersifat Gram Positif
-	Membentuk Endospora
-	Katalase Positif

Uji Katalase menunjukkan bahwa bakteri OS-16 merupakan katalase positif. Sehingga dimungkinkan bakteri OS-16 merupakan bakteri aerob.atau anaerob fakultatif. Pada uji endospora, OS-16 mampu membentuk endospora Endospora merupakan bentuk perlindungan bakteri terhadap kondisi lingkungan yang panas (mendidih), dingin, kering, atau yang tinggi bahan kimia. Lapisan dari endospora dari dalam adalah sel membran, peptidoglikan, sel membran, keratin, dan bagian paling luar yang disebut *exosporium*, bakteri yang mampu menghasilkan endospora adalah *Bacillus* aerob dan *Clostridium*. [9]

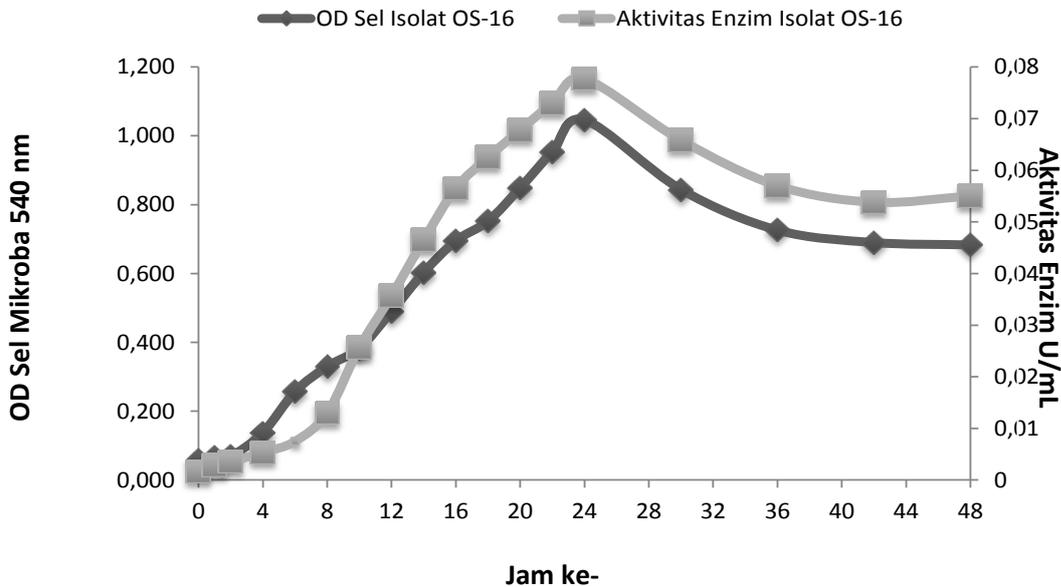
3. Isolasi Enzim Selulase

Waktu yang tepat untuk produksi enzim selulase ditentukan dengan mengetahui kurva pertumbuhan isolat. Pada pembuatan kurva pertumbuhan, sampel diukur setiap 30 menit pada dua jam pertama, selanjutnya pengukuran dilakukan setiap 2 jam sekali dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang (λ) 570 nm dan λ 540 nm untuk mengukur aktivitas enzim selulase.

Kurva pertumbuhan pada Gambar 3 menunjukkan bahwa pertumbuhan sel dan aktivitas enzim isolat OS-16 berbanding lurus. Pada jam ke-0 hingga jam ke-4 merupakan fase lag dimana bakteri masih melakukan adaptasi terhadap lingkungan yang baru. Pertumbuhan bakteri mulai memiliki perubahan yang signifikan pada jam ke-4 hingga jam ke-24, tahapan ini disebut dengan fase log dimana bakteri mulai mereplikasi DNA dan kemudian sel mulai berkembang, pertumbuhan bakteri berlangsung dengan cepat hingga dua kali lipat dari jumlahnya semula [10]. Setelah jam ke-24 pengukuran OD absorbansi sel bakteri maupun aktivitas enzim menunjukkan penurunan kekeruhan. Hal ini terjadi karena sumber nutrisi untuk pertumbuhan sel telah habis dan mikroba memasuki tahap kematian. Ini disebut dengan fase kematian, dimana jumlah sel yang mati lebih banyak dibandingkan sel yang hidup. Tidak tampaknya fase stasioner pada kurva pertumbuhan adalah dimungkinkannya diproduksi metabolit sekunder berupa enzim protease yang menyebabkan sel bakteri lisis dan terdegradasinya enzim selulase.

Produksi enzim yang merupakan metabolit primer terjadi dari pertumbuhan sel hingga akhir fase logaritmik atau fase awal stasioner [11]. Berdasarkan data hasil penelitian maka produksi isolat OS-16 dilakukan hingga jam ke-24.

Suspensi bakteri dipisahkan dari enzim dengan cara sentrifugasi dingin pada suhu 4°C selama 10 menit dengan kecepatan 10.000 rpm. Sentrifugasi dilakukan pada suhu dingin untuk mencegah terjadinya denaturasi protein pada enzim akibat suhu yang tinggi.

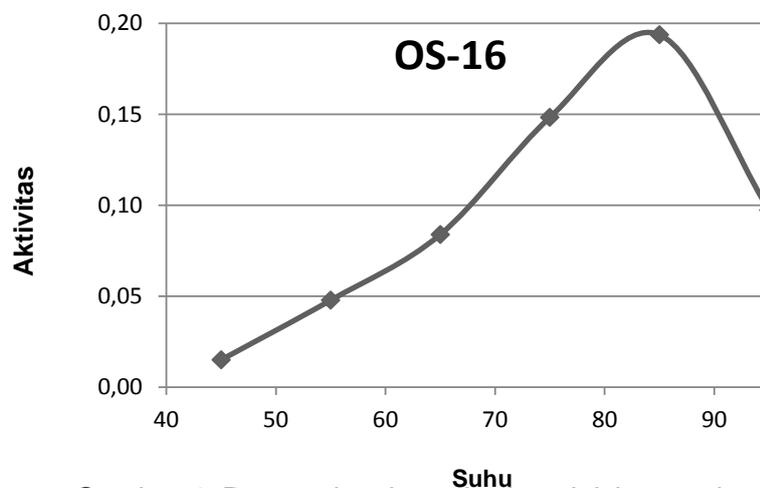


Gambar 3. Kurva pertumbuhan (OD Sel mikroba) dan aktivitas enzim isolat OS-16

Aktivitas selulase hasil isolasi diukur dengan metode 3,5 reagen dinitrosalicylic (DNS) pada kondisi reaksi pH 7, suhu 55°C dan waktu inkubasi 30 menit.

4. Karakterisasi Ekstrak Kasar Enzim Selulase OS-16

Enzim selulase dari isolat OS-16 memiliki aktivitas tertinggi pada suhu 85°C sebesar 0,194 U/mL. Perbedaan suhu optimal enzim yang dihasilkan oleh beberapa isolat dipengaruhi oleh karakteristik isolat penghasilnya[12].



Gambar 4. Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim

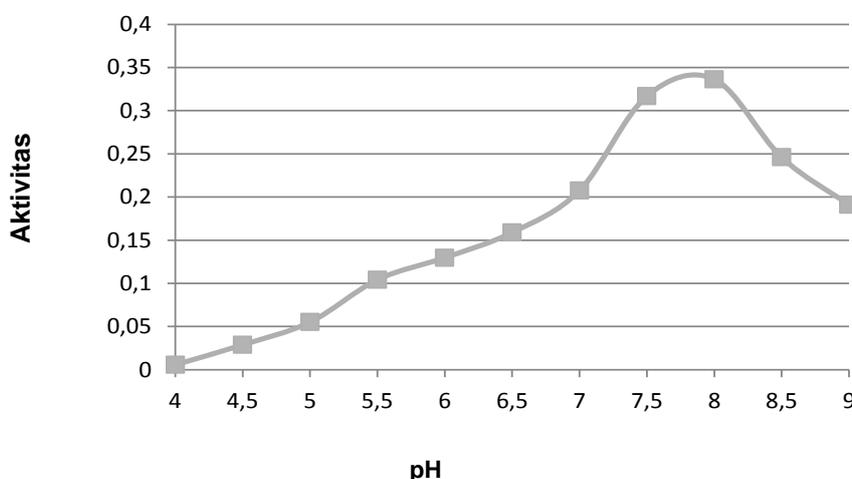
Isolat OS-16 pada suhu 45-75°C (Gambar 4) masih memiliki aktivitas yang belum optimal, dan mencapai suhu optimal pada 85°C dan mengalami penurunan aktivitas pada suhu 95°C. Pada suhu rendah atau suhu dibawah suhu optimal akan mengakibatkan enzim kekurangan energi sehingga tidak mampu beraktivitas secara maksimal, peningkatan suhu hingga mencapai suhu optimal akan meningkatkan aktivitas enzim pula, setelah melebihi suhu optimal, enzim akan mengalami denaturasi termal dan mengubah struktur enzim, sehingga aktivitas enzim menurun[13].

Pada proses peningkatan suhu, sebagian dari panas dapat diubah menjadi energi potensial kimia. Energi potensi yang cukup besar dapat merusak ikatan yang membentuk struktur tiga dimensi dari enzim yang menyebabkan denaturasi termal pada enzim dan menonaktifkan enzim[14].

Aktivitas enzim yang optimum pada suhu 85°C memberikan keuntungan pada proses pembuatan bioetanol dari limbah pertanian, dimana proses ini terlebih dahulu membutuhkan *pretreatment* untuk menghilangkan lignin yang terdapat pada limbah. Proses *pretreatment* lignin membutuhkan suhu yang tinggi yaitu 120°C.[15] Walaupun aktivitas optimum dari enzim isolat OS-16 hanya mencapai 85°C, keuntungan yang diberikan selain menurunkan biaya untuk proses pendinginan, proses dapat berjalan dengan lebih cepat karena penurunan suhu hanya perlu dilakukan hingga suhu 85°C.

5. Penentuan pH Optimal

Enzim selulase dari isolat OS-16 dikarakterisasi dengan menginkubasi pada pH 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5; 7; 7,5; 8; 8,5; 9 pada suhu optimal 85°C dan memiliki aktivitas tertinggi pada pH 8 yakni sebesar 0,336. Pada pH optimalnya enzim akan mengalami perubahan ionisasi gugus ionik pada sisi aktif yang menyebabkan sisi aktif menjadi lebih efektif dalam berikatan dengan substrat[16].



Gambar 5. Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim

Pada penelitian ini enzim OS-16 memiliki pH optimal sebesar 8 (Gambar 5), sedangkan pada pH di atas 8 mengalami penurunan aktivitas. Hal ini dikarenakan jika pH berada di atas atau dibawah pH optimalnya, dapat menyebabkan perubahan bentuk enzim. Pada pH di bawah atau di atas 8, keadaan ionisasi asam amino dalam enzim selulase isolat OS-16 diubah, maka ikatan ionik yang membentuk struktur tiga dimensi dari enzim dapat berubah, yang mengakibatkan enzim menjadi tidak aktif selain itu perubahan pH tidak hanya mempengaruhi bentuk enzim, tetapi juga dapat mengubah bentuk atau sifat muatan substrat.[15]

Kondisi pH optimum dari enzim isolat OS-16 pada pH 8 memberikan keuntungan pada proses *pretreatment* lignin, dimana proses ini dilakukan dengan penambahan NaOH

sebanya 5%[16], sehingga memberikan kondisi basa. Dengan kemampuan enzim untuk berkerja optimum pada kondisi basa menyebabkan tidak perlu dilakukannya pengaturan pH menjadi pH normal untuk memasuki tahap fermentasi selulosa.

6. Pemurnian Sederhana Enzim OS-16

Pemurnian sederhana enzim dilakukan dengan menggunakan metode pengendapan amonium sulfat. Ekstrak enzim kasar yang didapatkan dari sentrifugasi diendapkan pada fraksi amonium sulfat 60%,70% dan 80% pada suhu 4°C untuk mencegah terjadinya denaturasi protein pada enzim akibat suhu.

Tabel 3. Aktivitas spesifik enzim OS-16 pada beberapa fraksi pengendapan amonium sulfat

Fraksi Amonium Sulfat	Aktivitas Enzim	Kadar Protein	Aktivitas Spesifik
60%	0.082 U/mL	2.05 mg/mL	0.040 U/mg
70%	0.154 U/mL	2.15 mg/mL	0.072 U/mg
80%	0.103 U/mL	2.30 mg/mL	0.045 U/mg

Dari data tabel 3, aktivitas spesifik enzim paling tinggi terdapat pada fraksi 70% (0,154 U/mg) yang dilanjutkan dengan proses dialysis. Dialisis adalah teknik untuk memisahkan komponen yang kecil dan tidak diinginkan dari suatu larutan dengan menggunakan difusi pasif dan selektif oleh membran *semi-permeable*. [17]

Tabel 4. Tahapan pemurnian enzim selulase

Tahapan	Vol. (mL)	Aktiv (U/mL)	Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)	Total aktiv. (Unit)	Total Protein (mg)	Hasil (%)	Kemurnian (kali)
Supernatan	87	0.045	2.98	0.015	3.95	259.26	100	1.00
Presipitasi 70%	14.5	0.154	2.15	0.072	2.23	53.75	56.53	4.70
Dialisis	3.7	0.505	1.56	0.324	1.87	5.77	47.31	21.25

Dialisis dilakukan dengan menggunakan kantong dialisis dengan pori berukuran 12-14 kDa. Berdasarkan studi literatur, diketahui berat molekul dari enzim selulase berkisar antara 26-200 kDa. Sehingga enzim selulase tidak dapat keluar melalui pori pada tabung dialisis, tetapi amonium sulfat yang berupa ion dapat keluar dengan mudah melalui membran.

Aktivitas enzim dari setiap tahapan pemurnian sederhana enzim selulase dapat dilihat pada tabel 4, dimana setiap tahapan menunjukkan enzim selulase menjadi semakin murni. Dapat dilihat dari aktivitas enzim yang semakin meningkat, tetapi kadar protein yang semakin menurun. Penurunan kadar protein menunjukkan protein lain selain enzim selulase sudah terpisah, hal ini yang menyebabkan terjadinya peningkatan aktivitas enzim, karena enzim dapat bekerja tanpa adanya gangguan dari senyawa pengotor lain. [18]

7. Uji Spesifitas Enzim pada Berbagai Substrat

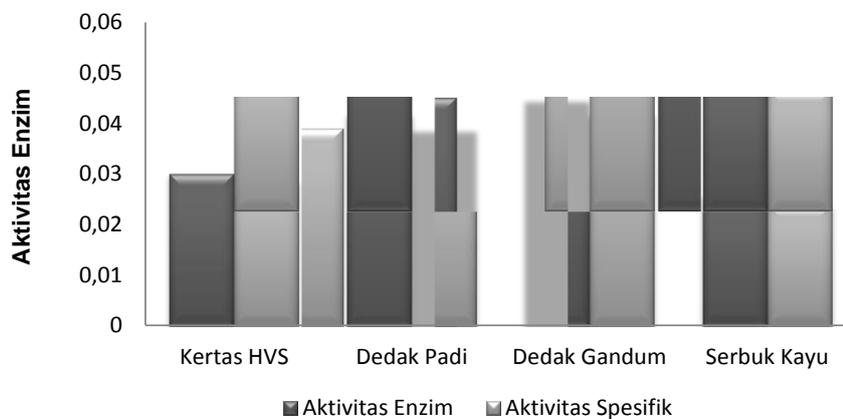
Aktivitas selulase dalam menghidrolisa selulosa akan berbeda pada setiap sumber selulosa yang berasal dari alam. Substrat yang digunakan adalah dedak gandum dedak padi, kertas putih dan serbuk gergaji. Pemilihan substrat ini didasarkan kandungan selulosa yang berbeda-beda pada setiap bahan.

Berdasarkan Gambar 6, enzim selulase menunjukkan aktivitas tertinggi pada penggunaan substrat dedak gandum (0,034 U/mL), sedangkan aktivitas terendah pada penggunaan substrat serbuk kayu (0,026 U/mL). Hasil ini jauh lebih rendah jika dibandingkan dengan penggunaan CMC sebagai substrat (0,505 U/mL).

Aktivitas enzim bergantung pada kandungan dan struktur setiap substrat yang berbeda-beda. Pada penggunaan CMC sebagai substrat, aktivitas enzim jauh berbeda dibandingkan dengan substrat lainnya dikarenakan CMC merupakan bahan yang mengandung selulosa murni dan tidak mengandung lignin yang bisa menghambat aktivitas enzim dalam memecah

substrat. Hambatan proses hidrolisis selulosa baik secara asam maupun enzimatis adalah adanya struktur kristalin dan lignin yang berfungsi sebagai pelindung selulosa.[17] Lignin berikatan kuat dengan selulase melalui ikatan kovalen dan melindungi selulosa dari degradasi, sehingga sebaiknya dibutuhkan *pre-treatment* sebelum menggunakan substrat dengan kandungan lignin yang tinggi.

Dari keempat substrat, dedak gandum memiliki kandungan lignin yang cukup rendah yakni sebesar 3,2%. Kadar lignin ini lebih rendah jika dibandingkan dengan kadar lignin dedak padi dan kayu, diduga enzim selulase lebih mudah menghidrolisa dedak gandum sehingga aktivitas yang dihasilkan lebih tinggi dibandingkan substrat lainnya, Walaupun kertas memiliki kandungan lignin <1% akan tetapi keberadaan residu bahan kimia dari proses *bleaching* kertas yang mencapai lebih dari 3% diduga menghambat enzim selulase untuk berikatan dengan substrat, sehingga aktivitas yang dihasilkan juga kecil. Sedangkan pada dedak padi memiliki kadar lignin 5% dan serbuk kayu sebesar 22-31%. Kadar lignin yang lebih tinggi dibandingkan dengan dedak gandum mengakibatkan aktivitas enzim pada kedua substrat ini lebih rendah dibandingkan dengan dedak gandum.



Gambar 5. Diagram Batang Aktivitas Enzim Selulase Terhadap Berbagai Substrat

Lebih rendahnya aktivitas enzim selulase asal isolat OS-16 pada dedak gandum dimungkinkan karena masih adanya pengotor yang menghambat atau tingkat pemurnian yang kurang maksimal dan ditemukannya kondisi optimal selain suhu dan pH pada enzim selulase, seperti lama inkubasi maksimum pada enzim dan kadar optimal substrat. Selain itu dimungkinkan enzim selulase pada isolat OS-16 lebih banyak memproduksi enzim selulase dominan berupa CMC-ase yang hanya mampu memecah selulosa dalam bentuk murni saja, dan memiliki aktivitas yang rendah terhadap selulosa yang tidak dalam bentuk murni.

SIMPULAN

Didapatkan 12 isolat bakteri dari Padang Pasir Tengger-Bromo yang memiliki potensi sebagai bakteri selulolitik. Isolat OS-16 memiliki Indeks Selulolitik terbesar, yaitu 11 dengan aktivitas enzim 0.045 U/mL, enzim selulase dari isolat OS-16 mempunyai aktivitas optimal pada pH 8 dan temperature 85°C, ekstrak enzim kasar selulase memiliki nilai aktivitas 0.045 U/mL; kadar protein 2.98 mg/mL ; aktivitas spesifik 0.015 U/mg. Setelah dimurnikan dengan amonium sulfat aktivitas meningkat menjadi 0.154 U/mL; kadar protein 2.15 mg/mL; dan aktivitas spesifik meningkat menjadi 0.072 U/mg. Enzim selulase memiliki akitivitas tertinggi setelah didialisis sebesar 0.505 U/mL kadar protein menurun menjadi 1.56 mg/mL dan aktivitas spesifik sebesar 0.324 U/mg. Pada uji spesifitas substrat, aktivitas tertinggi enzim selulase berturut-turut adalah Dedak gandum > dedak padi > kertas HVS > serbuk kayu.

DAFTAR PUSTAKA

- 1) Sadhu, S, dan, T.K., Maiti. 2013. *Cellulase Production by Bacteria : A review. British Microbiology Research Journal* 3(3):235-258
- 2) Sukojo, B.M . 2003. *Pemetaan Ekosistem di Wilayah Gunung Bromo dengan Teknologi Penginderaan Jauh. Makara, Teknologi* 7(2) : 63-72.
- 3) Meryandini, A., W. Widosari., B. B Maranatha, T.C., Sunarti, N. Rachmania, H. Satria. 2009. *Isolasi Bakteri Selulolitik dan Karakterisasi Enzimnya. Makara,Sains, Vol. 13, No.1 April 2009: 33-38*
- 4) Shiratory, H.I. Hironori,A. Shohei, and K. Naoaki. 2006. *Isolation and Characteristaion of A New Clostridium sp. That Perform Effective Cellulosic Waste Digestion in A Thermophilic Methanogenic Bioreactor. Applied and Environmental Microbiology. 72(5):3702-3709*
- 5) Teather, R.M and J.P., Wood. 1982. *Use of Congo Red Polysaccharide Interactions in Enumerations and Characterisation of Cellulolytic Bacteria from the Bovine Rumen. Applied and Environmental Microbiology. 43 (4):777-780*
- 6) Winarto, N. 2009. *Pemurnian dan Karakterisasi Enzim Selulase dari Isolat Bakteri Sumber Air Panas Songgfroriti, Batu, Jawa Timur. Skripsi. Universitas Brawijaya*
- 7) Andriana, M.N. 2009. *Isolasi dan Karakterisasi Enzim Selulase Dari Isolat Bakteri Termofilik Sumber Air Panas Cangar (Tahura R. Soeryo), Batu, Jawa Timur. Skripsi. Universitas Brawijaya*
- 8) Diah N.M, A. 2007. *Studi Aktivitas Spesifik Selulase dari Lactobacillus collinoides yang dimurnikan dengan pengendapan bertingkat ammonium sulfat. Fakultas MIPA. Skripsi. Universitas Brawijaya*
- 9) Gladwin, M., dan B., Tathler., 2004. *Clinical Microbiology Made Ridiculously Simple Ed.3. Medmaster., New York.*
- 10) Thiel, T., 1999. *Science in the Real World : microbes in Action. University of Missouri-Saint Louis. Missouri*
- 11) Coleman, G. 1967. *Studies on the Regulation of Extracellular Enzyme Formation by Bacillus Subtilis. J. Gen. Microbiol. (1967), 49, 421-431*
- 12) Sigres, D.P., A., Sutrisno. *Enzim Mananase dan Aplikasi di Bidang Industri : Kajian Pustaka. Jurnal Pangan dan Agroindustri* 3(3) : 899-908
- 13) More, N., M.R. Daniel, H.H. Petach, 2001. *Research Communication The Effect of low Temperatures on Enzyme Activity. Biochem. J. (1995) 305, 17-20*
- 14) Nishiura, J.^a, 1999. *Effect of temperature on Enzyme Activity. Brooklyn College. City University of New York. New York*
- 15) Nishiura, J.^b. 1999. *The Effect of pH on Enzyme Activity. Brooklyn College. City University of New York. New York*
- 16) Webb, E.C and M. Dixon. 1979. *Enzymes. Academic Press, New York*
- 17) Berg, J.M., J.L., Tymoczko, L. Stryer. 2002. *Biochemistry, 5th Edition.W.H Freeman.New York*
- 18) Sumardi, A. Suwanto, M. Thenawidjaja, T. Purwadaria. 2005. *Isolation and Characterization of Mannanolytic thermophilic Bacteria From Palm Oil Shell and Their Mananase Enzyme Production Properties. Biotropia No.25, 2005 : 1-10*